

2554/97

Hungary 9702554 A2



1997 DEC 30

A2

Képviselő:

Danubia Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft. KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY
Budapest

ANTITUMORÁLIS ÉS ANTIMETASZTATIKUS HATÁSÚ HEXAPEPTIDEK

A találmány olyan hexapeptidekre vonatkozik, amelyek lizin (a leírásban a következő betűvel jelöljük: K), hisztidin (a leírásban a következő betűvel jelöljük: H) és arginin (a leírásban a következő betűvel jelöljük: R) bázikus aminosavakból állnak és képesek gátolni a primer daganatok növekedését és terjedését, valamint az angienezist.

A szulfatált glükózaminoglikán (GAG) molekulák (elsősorban a heparán- szulfát, rövidítve: HS) fehérjékhez kapcsolódásának alapja a negatívan töltött GAG-cukor (szulfát- vagy a karboxilrész) ionos kapcsolódása a fehérjén lévő pozitívan töltött aminosavak, éspedig az előzőekben említett aminosavak csokrához (K, R és H). A GAG cukorlánc részéről 5-6 egységes oligoszacharid-részre van szükség, míg a fehérje részéről szintén 5-6 aminosavas bázikus peptidszakasz a kötő régió [(Lander, A.D.: Chemistry Biology: 1, 73 - 78 (1994)].

A szervezetben előforduló heparin-kötő fehérjék a legváltozatosabb funkciót töltik be. Jellemző családjuk a szövetközi állományt alkotó adhéziós fehérjék (fibronektin, laminin, kollagén IV, elasztin, vitronektin), a véralvadásban kulcsszerepet játszó fehérjék, a sejtosztódás szabályozásában részt vevő magi fehérjék (transzkripciós faktorok, magi enzimek). A növekedési faktorok egy jelentős része heparin-kötő képességgel rendelkezik [lásd: Ruoslahti, E. és Yamaguchi Y.: Cell, 64, 867 - 869 (1991); il-

letve Lander korábban referált cikke], és a heparin-kötő citokinek biológiai hatásainak kialakulásában a sejtfelszíni heparán-szulfát proteoglikánok játszanak szerepet mint elsődleges kötőhelyek [Lopez-Cassilas, F. és munkatársai: Cell, 73, 1435 - 1444 (1993); Yayon, A. és munkatársai: Cell, 64, 841 - 848 (1991); Tímár, J. és munkatársai: Pathol. Oncol. Res., 1, 85 - 93 (1995)].

Korábbi vizsgálataink azt mutatták, hogy a tumorsejtek sejtfelszíni proteoglikánjai alapvető szerepet játszanak a tumorsejtek metasztatikus képességében. Kísérleti egér és humán tumor modelleken igazoltuk, hogy a fokozott májjáttétképző képességű tumor-vonalakban megnő a sejtfelszíni heparán-szulfát proteoglikánok (HSPG) mennyisége [Tímár, J. és munkatársai: Am. J. Pathol, 141, 467 - 474 (1992) és Int. J. Cancer, 62, 755-761 (1995)]. Vizsgálva, hogy az áttétképzés mely lépcsőfokában lehet ezeknek a molekuláknak szerepük, azt találtuk, hogy a fokozottan áttétképző képességű tumorsejtek proliferációja gyorsul heparán-szulfát jelenlétében; a fibronectin adhézió döntő része is heparin-függőnek bizonyul, igazolva, hogy a felszíni HSPG-k a kaszkád több lépésében is stimuláló módon szerepelhetnek [Tímár, J. és munkatársai: Pathol. Oncol. Res., 1, 85-93 (1995)]. A folyamatban a daganatsejtek, illetve felszíni HSPG molekulái minduntalan kapcsolatba kerülnek úgynevezett heparin-kötő, azaz bázikus aminosav-klusztereket tartalmazó fehérjékkel az adhéziós molekulákkal, erekkel, növekedési faktorokkal és citokinekkal a vérsérum alvadási fehérjéivel. Ezek az adatok mind azt sugallják, hogy a heparin-kötő bázikus fehérjék és a tumorsejtek biológiai viselkedése között kapcsolat lehet, és ez a kapcsolat az egyik fő mozgatórugó lehet a daganatprogresszióban. Ennek alapján, ha ezt a kapcsolatrendszer szét tudnánk zilálni, illetve fel tudnánk függeszteni, akkor a daganat progressziója is lelassulna, illetve megállna.

Heparin-kötő szintetikus peptidek találhatók az irodalomban. Ezen

peptidek nagyobbik része sokkal nagyobb molekula (10 - 20 aminosavból állanak), mint a későbbiekben ismertetendő találmány szerinti hexapeptidek, és közös jellemzőjük, hogy gyakorlatilag szolgáiban másolják a heparin-kötő fehérjék megfelelő, úgynevezett heparin-kötő bázikus aminosavból álló doménjét.

Egy $x(\text{arg})_8$ és $x(\text{lys})_8$ (ahol $x=\text{cys}$), valamint egy $\text{cys-lys-lys-glu-phe-arg-his-arg-asn-arg-lys-gly}$ szekvenciájú, 13 aminosavas peptid a sejtek fő adhézións receptorait, az integrineket képes megkötni, ami adhézións funkciójukat igazolja [Vogel, B.E. és munkatársai: J. Cell Biol., 121, 461-468 (1993)]. Egy másik adhézións molekula thrombospondin heparin kötő doménjaiból szintetikus peptideket állítottak elő legfeljebb 17 aminosavból, például a $\text{lys-arg-phe-lys-glu-asp-arg-arg-trp-ser-his-trp-ser-pro-trp-ser-ser}$ peptidet és ennek trp-ser-ser-vég nélküli variánsát, valamint a $\text{lys-arg-phe-lys-gln-asp-arg-arg-trp-trp-ser-pro}$ peptidet [Guo, N. és munkatársai: J. Biol. Chem., 267, 19349 - 19355 (1992)]. A peptidek melanóma sejtek esetében adhézións és motilitást fokozó hatásúnak bizonyultak. Egy másik munkacsoport [Murphy-Ullrich, J.E. és munkatársai: J. Biol. Chem., 268, 26784 - 26789 (1993)] a thrombospondin 17-35, 74-95 és 170-189 peptidszekvenciáit állította elő és igazolta, hogy ezek képesek a már kitapadt endotélsejtek adhézións struktúráit felbontani.

Az alvadási faktorok közül az antithrombin-III heparin-kötő peptidjét és módosításait állították elő Bae, J. és munkatársai [Biochem. J., 301, 121-129 (1994)] melyek 17 aminosavból álló peptidek és csak egy részük heparin-kötő szekvencia ($\text{leu-tyr-arg-lys-ala-asn-lys-ser-ser-lys}$). Egy másik véralvadás-moduláló fehérje, a heparin-interacting protein (HIP) heparin-kötő szintetikus változatát is elkészítették ($\text{cys-arg-pro-lys-ala-lys-ala-lys-ala-lys-ala-lys-asp-gln-thr-lys}$) amely az antithrombin III-mal képes kompetícióra lépni [Liu, S. és munkatársai: PNAS US, 94, 1739-1744 (1997)].

Számos anti-angiogenetikus szintetikus peptid ismert a szakirodalomban, amelyek között több heparin-kötő is előfordul. Ilyen például a leu-tyr-lys-lys-ile-ile-lys-lys-leu-leu-glu-ser a trombocita faktor (PF-4) molekulából [Maione, T.E. és munkatársai: Science, 247, 77 - 79 (1990)], és a thrombospondin mal II és mal III peptidjei, amelyekben csak egy kis rész heparin kötő (ile-thr-arg-ile-arg a mal II-ben és gln-lys-arg-ser-lys a mal III-ban) [Tolsma, S.S. és munkatársai: J. Cell. Biol., 122, 497-511 (1993)]. Liu és munkatársai az előző bekezdésben említett publikáció tanúsága szerint egy új véralvadási fehérjét, a HIP szintetikus heparin-kötő doménjeit készítették el, amelyek az antithrombinnal képesek kompetícióba lépni.

A citokinek és növekedési faktorok közül az FGF-1/2 és a TGF β heparin kötő régióira készítettek szintetikus makropeptideket. Az FGF-1 heparin kötő peptidjei, azaz a trp-phe-val-arg-leu-lys-lys-asn-gly-ser-cys-lys-arg-gly-pro-arg és ser-lys-lys-his-ala-glu-lys-asn-trp-phe-val-gly-leu-lys-lys-asn-ser-cys-lys-arg-gly-pro-arg, valamint a lys-phe-asn-leu-pro-pro-gly-asn-tyr-lys-lys-pro-lys-leu-leu-tyr kémiaiilag aktívak voltak, és képesek voltak felfüggeszteni az FGF osztódást stimuláló hatását [Wong, P. és munkatársai: J. Biol. Chem., 270, 25805 - 25811 (1995)]. A TGF β -ból 4 peptidet készítettek, azaz a trp-lys-trp-ile-his-glu-pro-lys-gly-tyr-his-ala-asn, asp-phe-arg-lys-asp-leu-gly-trp-lys-trp, pro-tyr-ile-trp-ser-leu-asp-thr-gln-tyr és val-gly-arg-lys-pro-lys-val-glu peptideket, melyek kémiaiilag aktívak voltak, de biológiai hatásuk nem ismert [McCaffey, T.A. és munkatársai: J. Cell. Physiol., 152, 430-440 (1992)]. Bizonyos sejttípusok parakrin növekedése az IGF-1, illetve IGF-2 növekedési faktortól függ melyet egy protein (IGF-BP3) szállít. Ezt a proteint egy mátrixbontó enzim, az MMP3 hasítani képes, amikor heparin-kötő peptidek keletkeznek. Fowlkes, J.L. és Serra, D.M. a J. Biol. Chem., 271, 14676-14679 (1996) szakirodalmi helyen közöltek szerint szintetikus IGF-BP3 peptideket állí-

tottak elő (ser-arg-leu-arg-ala-tyr-leu-leu-pro-ala-pro-pro-ala-pro, lys-lys-gly-his-ala-lys-asp-ser-gln-arg-tyr-lys-val-asp-tyr-glu-ser-gln-ser, . asp-lys-lys-gly-phe-tyr-lys-lys-lys-gln-cys-arg-pro-ser-lys-gly-arg), melyek heparin-kötő képességűek voltak, azonban ezek biológiai aktivitásáról nincsenek adatok.

Megállapítható tehát, hogy bázikus aminosavak felhasználásával szintetizált, ismert struktúr-analógok jóval hosszabb molekulák, mint a következőkben ismertetendő találmány szerinti bázikus hexapeptidek, ezért oldhatóságuk, biológiai membránokon keresztül történő áthatolásuk jóval lassúbb, mint a találmány szerinti bázikus hexapeptideké. Miután a bázikus peptidek biológiai aktivitása (heparin-kötő fehérjékkel való kompetíciója) hosszukkal egyre romlik, a találmány szerinti hexapeptidek előnyösebbek ebből a szempontból is. Az irodalomból ismert hosszabb struktúr-analógok biológiai hatásai daganatsejteken alig ismertek, eltekintve a szintetikus thrombospondin-peptidektől, azonban ezek fokozzák a melanóma sejtek vándorlását, ami invázió-fokozó hatást von maga után, ezért ezek a peptidek nem alkalmasak a daganatok gátlására.

Felismertük, hogy a csak lizinből, argininből és hisztidinből tetszés szerinti sorrendben felépülő hexapeptideknek kiváló antitumorális és antimetasztatikus hatásuk van.

A fentiek alapján a találmány lizinből, argininből és hisztidinből felépülő, tetszés szerinti szekvenciájú hexapeptidekre és ezek gyógyászatilag elfogadható savaddíciós sóira vonatkozik.

A találmány szerinti hexapeptidek egy előnyös alcsoportját alkotják azok, amelyek három - három azonos aminosavból épülnek fel. Ilyen peptidekre példaképpen megemlíthetjük a p1 jelzésű peptidet (KKKHHH-NH₂ azaz lys-lys-lys-his-his-his-NH₂), a p2 jelzésű peptidet (KKKRRR-NH₂ azaz lys-lys-lys-arg-arg-arg-NH₂) és a p3 jelzésű peptidet (HHHRRR-NH₂ azaz his-his-his-arg-arg-arg-NH₂).

Egy másik előnyös csoportot alkotnak a változó aminosavakból felépülő peptidek, például a p4 jelzésű (KHKHKH-NH₂ azaz lys-his-lys-his-lys-his-NH₂), a p5 jelzésű (KRKRKR-NH₂ azaz lys-arg-lys-arg-lys-arg-NH₂) és a p6 jelzésű (HRHRHR-NH₂ azaz his-arg-his-arg-his-arg-NH₂).

Egy további előnyös csoportot alkotnak a háromszor két - két azonos peptidből felépülők, így a p7 jelzésű (KKHHRR-NH₂ azaz lys-lys-his-his-arg-arg-NH₂), a p8 jelzésű (KKRRHH-NH₂ azaz lys-lys-arg-arg-his-his-NH₂) és a p9 jelzésű (RRHHKK-NH₂ azaz arg-arg-his-his-lys-lys-NH₂).

A háromféle aminosav mindazonáltal tetszőleges szekvenciájú lehet. Az ilyen vegyületekre a következő példákat említjük: p10 jelzésű (HRKHRK-NH₂ azaz his-arg-lys-his-arg-lys-NH₂), p11 jelzésű (RHKRHK-NH₂ azaz arg-his-lys-arg-his-lys-NH₂) és p12 jelzésű (KRHKRH-NH₂ azaz lys-arg-his-lys-arg-his-NH₂) peptid.

Az -NH₂ a hexapeptidek végén a C-terminális savamid csoportot jelöli.

A találmány szerinti hexapeptidek szintézisét a szakirodalomból e célra jól ismert módszerekkel, például a Tóth, G. K és munkatársai által a *Peptides*, 16, 1167-1172 (1995) szakirodalmi helyen ismertetett módon hajthatjuk végre. E módszer szerint a peptideket manuális szilárd fázisú peptidszintézis módszerrel célszerűen MBHA-gyantán (metil-benzhidril-gyantán) gyantán állítjuk elő, de használhatunk bármely más, e célra jól ismert gyantát. Az aminosavak alfa-aminocsoportját célszerűen Boc-csoporttal (terc-butil-karbonilcsoporttal) védjük. A szintézis során a nemkívánatos mellékreakciók elkerülése céljából az Arg oldalláncát célszerűen Tos- (tozil-), a Lys célszerűen oldalláncát 2-Cl-Z- (2-klór-benzil-oxi-karbonil-), a His oldalláncát célszerűen Z- (benzil-oxi-karbonil)-csoporttal védjük, de természetesen használhatunk bármely más alkalmas, a szakirodalomból jól ismert védőcsoportot.

A védett aminosavak kapcsolásához a szakirodalomból e célra jól

ismert kondenzálószerrek bármelyikét hasznosíthatjuk. Célszerűen 3 mólekvalens feleslegben vett diciklohexil-karbodiimiddel (DCC) dolgozunk. A kondenzációs reakcióhoz a reaktánsokkal, illetve a termékkel szemben közömbös oldószert, például halogénezett alifás szénhidrogéneket, célszerűen klórozott 1-4 szénatomos alkánokat, előnyösen diklórmetánt használhatunk. Az Arg kivételt képez, mert a Boc-Arg(Tos)-OH-t oldékonysági problémák miatt diklórmetán és dimetil-formamid elegyében, előnyösen 1:1 térfogatarányú elegyében kapcsoljuk. Az acilálási reakciót 2 óra után minden esetben Ninhidrin teszttel ellenőrizzük és pozitív Ninhidrin teszt esetében (a kapcsolási reakció nem volt 100%-os) a kapcsolást 1,5 mólekvalens védett aminosavval és például DCC-vel megismételjük.

Amennyiben a Ninhidrin teszt negatív, a Boc védőcsoportot célszerűen 50%-os vizes trifluor-ecetsav-oldattal (TFA) eltávolítjuk (5+25 perc reakcióidő), majd a gyantához megfelelő mosások és semlegesítés után a következő védett aminosav 3 mólekvalensét kapcsoljuk célszerűen 3 mólekvalens DCC-vel, és a fenti folyamatot a hexapeptid szekvenciájának megfelelően ismételjük. A szintetizált hexapeptidek C-terminálisait savamid csoporttal jelöljük.

A szintézis befejezése után a hexapeptidet célszerűen cseppfolyós, vízmentes hidrogén-fluoriddal (HF) hasítjuk le a gyantáról 0°C-on, 60 perces kezeléssel. A HF kezelés hatására a peptid N-terminális végén lévő védőcsoport, például Boc-csoport és az oldallánci védőcsoportok is lehasadnak. A HF eltávolítása vákuumban nitrogéngázzal történik. A peptidet kicsapjuk, kiszűrjük, vízzel mossuk, majd a csapadékot célszerűen 50%-os vizes ecetsavoldattal extraháljuk, az extraktumot célszerűen desztillált vízzel hígítjuk, végül liofilizáljuk.

A nyers termékeket célszerűen analitikai reverz fázisú HPLC-vel ellenőrizzük, amikor az 280/215 nm abszorbancia nyomonkövetésével

monitorozzuk az oldallánc-protekciós csoportok eltávolítását, majd preparatív HPLC-vel tisztítást végzünk. Az egyes hexapeptideket retenciós idejükkel jellemezzük. A tiszta peptidek szekvenciájának ellenőrzése célszerűen aminosav-analízissel, valamint ES-MS tömegspektroszkópiával történik.

A találmány szerinti peptidek gyógyászatilag elfogadható sói előállíthatók ismert módon farmakológiailag elfogadható savakkal, például szervetlen vagy szerves savakkal, így például hidrogén-kloriddal, kénsavval, foszforsavval, ecetsavval, borkőssavval, borostyánkőssavval vagy almasavval végzett kezelés útján.

A találmány szerinti peptidek biológiai hatását a következőképpen vizsgálhatjuk.

A rosszindulatú tumorok egyik fontos jellemzője a korlátlan szaporodóképesség. Ezen képességüket in vitro körülmények között is megőrzik. Ezért vizsgáltuk a bázikus hexapeptidek sejtszaporodást befolyásoló hatását in vitro körülmények között a Tóvári és munkatársai által az Anticancer Res., 16, 3307-3312 (1996) szakirodalmi helyen ismertetett módon.

Vizsgálati módszer:

96-férőhelyes műanyag tenyészedény egyes helyeire 3×10^3 tumorsejtet telepítettünk szérumot tartalmazó tápfolyadékban, majd 24 órára hagytuk letapadni a sejteket. 24 óra után a sejtek tápfolyadékát elvontuk és szérummentes tápfolyadékra cseréltük, amelybe a vizsgálandó hexapeptideket adtuk emelkedő koncentrációban 72 órára. A kísérleti periódus végén az edény alján növekedő sejteket mostuk, és szulforodamin B-vel festettük. (A festék a daganatsejteket festi meg, így a festődés az edényben levő sejtek számával arányos.) Az egyes helyek abszorbanciáját mértük Labsystem Multiskan MS ELISA olvasóval 492 nm-en. Kontrollként peptiddel nem kezelt sejteket használtunk. Minden kísérleti

A találmány szerinti gyógyászati készítmények beadhatók az e célra szokásosan alkalmazott módszerekkel, például orálisan, parenterálisan, rektálisan vagy topikálisan, a beadási módnak megfelelő formában, például tabletták, pilulák, ostyázott készítmények, kapszulák, injektálható oldatok és szuszpenziók, kúpok, krémek és kenőcsök formájában. Az ilyen

készítményekhez használhatunk például hordozó- és hígítóanyagokat, csúsztatókat, szétesést elősegítőszerek, áthatolást fokozó ágenseket, konzerválószereket, izesítőszereket és gyógyászatiilag hasznosítható színezékeket.

A találmány szerinti gyógyászati készítményekkel a legkülönbözőbb daganatos megbetegedések és tumorok kezelhetők, illetve megelőzhetők, elsősorban májrák esetében. A konkrét esetben alkalmazott dózist mindig a szakorvos állapítja meg, de átlagos testsúlyú felnőtt esetében ez parenterális beadásnál napi 1-2 mg, orális beadásnál 10-20 mg egyszeri vagy többszöri beadással, de természetesen a szakorvos alkalmazhat ennél kisebb vagy nagyobb dózisokat is.

A találmányt közelebbről a következő példákkal kívánjuk megvilágítani.

1. példa

A p10 hexapeptid szintézise

A p10 hexapeptidet manuális szilárd fázisú peptidszintézis módszerrel MBHA-gyantán állítottuk elő. A His, Arg és Lys aminosavak alfa-aminocsoportját Boc csoporttal védtük.

A szintézis során a nemkívánatos mellékreakciók elkerülése céljából az Arg reaktív oldalláncát Tos-, a Lys oldalláncát 2-Cl-Z-Boc, a His oldalláncát Z-Boc védőcsoporttal védtük.

10 mg védett His-hez 3 mólekvalens feleslegben adtuk a védett Arg(Tos)-OH-t 3 mólekvalens DCC-vel együtt diklór-metán és dimetilformamid 1:1 térfogatarányú elegyében. 2 óra kapcsolási idő után Ninhidrin tesztet végeztünk, mely negatív eredményt adott. A Boc védőcsoportot 50% TFA-val eltávolítottuk (5+25 perc reakcióidő), majd a His-Arg-hordozó gyantához diklór-metános mosás és semlegesítés után védett Lys 3 mólekvalensét adtuk 3 mólekvalens DCC-vel diklór-metán mint oldószer jelenlétében. 2 óra kapcsolási idő után Ninhidrin tesztet vé-

geztünk, mely negatív eredményt adott. A Boc védőcsoportot 50% TFA-val eltávolítottuk (5+25 perc reakcióidő).

A His-Arg-Lys-hordozó gyantához 3 mólekivalens feleslegben adtuk a védett His-t 3 mólekivalens DCC-vel diklór-metán mint oldószer jelenlétében. 2 óra kapcsolási idő után Ninhidrin tesztet végeztünk, mely negatív eredményt adott. A Boc védőcsoportot 50% TFA-val eltávolítottuk (5+25 perc reakcióidő).

A His-Arg-Lys-His-hordozó gyantához 3 mólekivalens feleslegben adtuk a védett Arg(Tos)-OH-t 3 mólekivalens DCC-vel diklór-metán és dimetil-formamid 1:1 térfogatarányú elegyében. 2 óra kapcsolási idő után Ninhidrin tesztet végeztünk, mely negatív eredményt adott. A Boc védőcsoportot 50% TFA-val eltávolítottuk (5+25 perc reakcióidő).

A His-Arg-Lys-His-Arg-hordozó gyantához megfelelő mosások és semlegesítés után védett Lys 3 mólekivalensét adtuk 3 mólekivalens DCC-vel diklór-metán mint oldószer jelenlétében. 2 óra kapcsolási idő után Ninhidrin tesztet végeztünk, mely negatív eredményt adott. A Boc védőcsoportot 50% TFA-val eltávolítottuk (5+25 perc reakcióidő). A szintetizált His-Arg-Lys-His-Arg-Lys hexapeptid C-terminálisát savamid csoporttal jelöltük. A hexapeptidet cseppfolyós, vízmentes HF-dal hasítottuk le a gyantáról 0°C-on 60 perces kezeléssel. A HF eltávolítása vákuumban nitrogéngázzal történt. A peptidet dietil-éterrel csaptuk ki, filtráltuk, dietil-éter és etil-acetát elegyével mostuk, majd 50%-os vizes ecetsavoldattal extraháltuk, az extraktumot desztillált vízzel hígítottuk, majd liofilizáltuk. A reakció eredményeként 9,3 mg peptidet kaptunk.

A nyers terméket analitikai reverz fázisú HPLC-vel ellenőriztük, amikor 280/215 nm abszorbancia nyomonkövetésével monitoroztuk az oldallánc-protekciós csoportok eltávolítását. A következő lépésben a preparatív HPLC tisztításkor 50 %-os vizes ecetsav mint mobil fázis alkalmazásával a bevitt 30 µl hexapeptid-oldattal Lichrosorb oszlopon 9,104

perc retenciós idejű peptidet kaptunk, mely mellett 0,7649%-ban volt jelen egy 10,960 perc retenciós idejű szennyező peptid. Az aminosav-analízis, illetve ES-MS tömegspektroszkópiás vizsgálat igazolta a 9,104 perc retenciós idejű peptid His-Arg-Lys-His-Arg-Lys-NH₂ szekvenciáját.

2 - 6. példák

Az 1. példában ismertetett módszerrel az alábbi retenciós idejű peptidek állíthatók elő:

Peptid	Retenciós idő
p1	5,960
p2	6,280
p4	7,225
p5	7,122
p6	7,275

Szabadalmi igénypontok

1. Lizinből, argininből és hisztidinből felépülő, tetszés szerinti szekvenciájú hexapeptidek és ezek gyógyászatiilag elfogadható savaddíciós sói.
2. Az 1. igénypont szerinti peptidek, amelyek három - három azonos aminosavból épülnek fel.
3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti peptidek közül a lys-lys-lys-his-his-his-NH₂, lys-lys-lys-arg-arg-arg-NH₂ és his-his-his-arg-arg-arg-NH₂.
4. Az 1. igénypont szerinti, szabályosan változó sorrendű aminosavakból felépülő peptidek.
5. Az 1. vagy 4. igénypont szerinti peptidek közül a lys-his-lys-his-lys-his-NH₂, lys-arg-lys-arg-lys-arg-NH₂ és his-arg-his-arg-his-arg-NH₂.
6. Az 1. igénypont szerinti peptidek közül a háromszor két - két azonos aminosavból felépülők.
7. Az 1. vagy 6. igénypont szerinti peptidek közül a lys-lys-his-his-arg-arg-NH₂, lys-lys-arg-arg-his-his-NH₂ és arg-arg-his-his-lys-lys-NH₂.
8. Az 1. igénypont szerinti peptidek közül a háromféle aminosavat tetszőleges vagy véletlen (random) sorrendben tartalmazók.
9. Az 1. vagy 8. igénypont szerinti peptidek közül a his-arg-lys-his-arg-lys-NH₂, arg-his-lys-arg-his-lys-NH₂) és lys-arg-his-lys-arg-his-NH₂.
10. Gyógyászati készítmény, azzal jellemezve, hogy hatásos mennyiségben az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti peptidet tartalmaz.

A bejelentő helyett
a meghatalmazott:

DANUBIA
Szabadalmi és Védjegyiroda Kft.

Dr. Fehérvári Flóra
szabadalmi ügyvivő

Aktaszámunk: 87096-10788 FO/JG

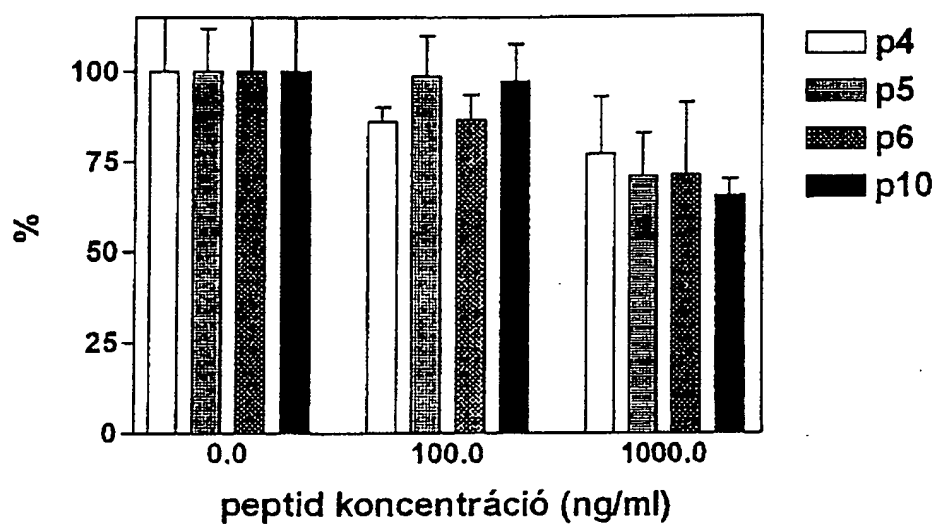
2. rész
Gw. al. al

2554/97

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Bázikus hexapeptidek hatása humán melanóma
sejtvonal (M1/9) növekedésére in vitro (72 óra)



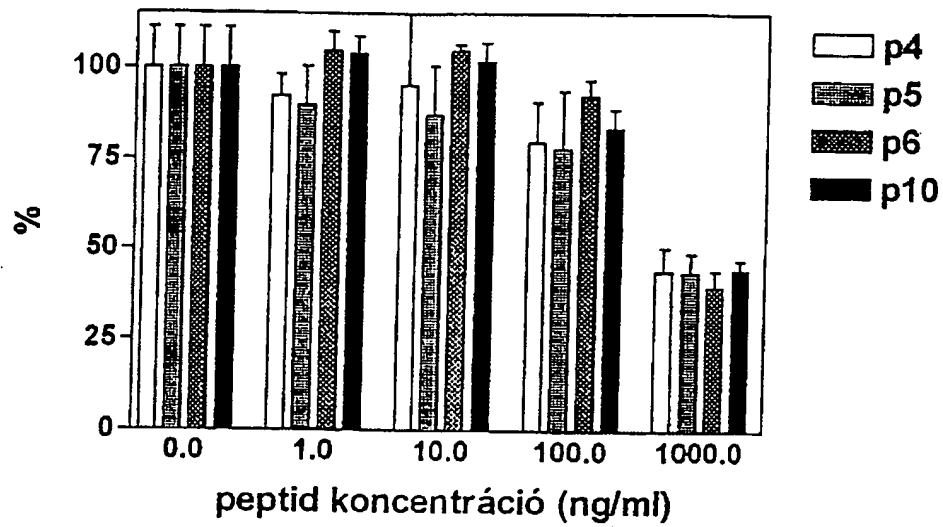
1. ábra

2554/97

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Bázikus hexapeptidek hatása humán vastagbélrák
sejtvonal (HT25) növekedésére in vitro (72 óra)



2. ábra

DERWENT-ACC-NO: 2000-026396

DERWENT-WEEK: 200003

COPYRIGHT 2006 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Hexapeptides and their salts - for
use in medical
preparations to prevent the growth
and spread of primary
tumors

INVENTOR: TIMAR, J

PATENT-ASSIGNEE: TIMAR J[TIMAI]

PRIORITY-DATA: 1997HU-0002554 (December 30, 1997)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PAGES	PUB-DATE	MAIN-IPC
HU 9702554 A2		November 29, 1999	N/A
001	C07K 007/06		

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO
HU 9702554A2	N/A	1997HU-
0002554	December 30, 1997	

INT-CL (IPC): A61K038/06, C07K007/06

ABSTRACTED-PUB-NO: HU 9702554A

BASIC-ABSTRACT:

The invention relates to the use of hexapeptides containing lysine, arginine and histidine in any sequence and their salts for prevention the growth and spread of primary tumors and angiogenesis.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS: SALT MEDICAL PREPARATION PREVENT GROWTH SPREAD
PRIMARY

DERWENT-CLASS: B04

CPI-CODES: B04-C01B; B14-H01;

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C2000-006783